

Se ha demostrado en él la presencia de enzimas conocidas como glicosil-transferasas, que catalizan la polimerización de azúcares en polisacáridos, los cuales son liberados al espacio extracelular. Estas enzimas son responsables de la conjugación de los carbohidratos con las glicoproteínas, que tienen una función fundamental en las secreciones celulares y en la constitución de la membrana plasmática.

El Aparato de Golgi interviene en el mecanismo de secreción celular y en la formación de lisosomas primarios.

### **CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS.**

Como ya se explicó es posible observar mediante técnicas de impregnación en plata el aparato de Golgi. También en células que han sido sumergidas en tetróxido de osmio al 2% durante varios días, se demuestra la presencia del aparato de Golgi y también mediante la técnica citoquímica de demostración de la enzima tiaminopirofosfatasa que se encuentra en gran cantidad en este sistema de membrana. Con todas estas técnicas, se ha evidenciado la diversidad en cuanto a forma y tamaño que presenta el aparato de Golgi. Por ejemplo, en las neuronas se dispone como un enrejado alrededor del núcleo: en células absorptivas del intestino se localiza entre el núcleo y la región apical o secretora observándose de una forma más compacta, etc., es decir, que el aparato de Golgi puede presentar una apariencia distinta en diferentes tipos celulares, aunque, podemos afirmar de forma general que esta estructura se dispone de forma polarizada entre el núcleo y la región apical de las células secretoras.

En las células secretoras de proteínas coloreadas con hematoxilina y eosina, el aparato de Golgi da una "imagen negativa" donde él se localiza, es decir, contrasta claramente sobre un fondo basófilo, por no tener ribosomas u otros elementos que se tiñan con (H/E). Un ejemplo de ello lo tenemos en la célula plasmática que elabora los anticuerpos los cuales tienen una composición predicha.

### **ESTRUCTURA AL M/E.**

Al M/E el aparato de Golgi se visualiza formado por membranas lisas que se disponen como sacos, unos encima de otros y separados por un espacio. Dependiendo de la célula, los sacos estarán en número de tres a ocho como promedio. Relacionados con estos sacos se encuentran vesículas de diferentes tamaños.

El aparato de Golgi se dispone polarizadamente en algunas células secretoras como las células caliciformes, las células acinares del páncreas, etc. en las que el Aparato de Golgi se sitúa entre el núcleo y el polo secretor de dichas células, en otros tipos celulares, como en la neurona, se localiza formando dictiosomas alrededor del núcleo.

En primer lugar, debemos señalar la presencia de dos caras en la disposición de los sacos del Golgi. La cara que da hacia el núcleo, **inmadura o formadora**, también llamada **cis**, y la que da hacia el polo apical, **cara madura**, denominada también **trans**, además, los sacos del Golgi se disponen de forma tal que la cara inmadura es convexa y la cara madura es cóncava, pudiendo por tanto denominarse de esta forma, **cara cóncava y cara convexa**.

A manera de resumen diremos que el aparato de Golgi está formado por tres elementos membranosos de aspecto liso: Pequeñas vesículas (vesículas de transferencia), Sacos o sáculos y grandes vesículas (vesículas de secreción).



Fig. 3.15. Aparato de Golgi. Microscopia electrónica de transmisión.

Las **vesículas pequeñas** o vesículas de transferencia, provienen del retículo endoplásmico rugoso y contienen proteínas que van a ser secretadas o forman parte de las enzimas lisosomales. Estas proteínas se conjugan a nivel del aparato de Golgi (aunque hay evidencias de que ya en las vesículas de transferencia comienzan a conjugarse con carbohidratos, formando glicoproteínas). Las vesículas de transferencia llegan a la cara inmadura, se fusionan con los sacos y liberan en el interior de ellas su contenido. En el interior de los sacos, las proteínas son conjugadas con carbohidratos y "empaquetadas" en dilataciones hacia los extremos de los sacos; estos comienzan a dilatarse y se desprenden por gemación, como vesículas secretoras. Estas continúan convirtiéndose en un gránulo de secreción o en un lisosoma primario.

Este proceso de desplazamiento de sustancias dentro de vesículas membranosas, provoca una dinámica en el recambio de membranas. Por la cara inmadura se van adicionando membranas de las vesículas de transferencia, a su vez, por la cara madura se van desplazando y liberando membranas que forman las vesículas secretoras; estas se unirán posteriormente a la membrana citoplasmática.

Durante el proceso de endocitosis la membrana citoplasmática pierde parte de ella en la formación de vacuolas endocíticas, por tanto, hay un recambio constante de membranas en la célula, entre los diferentes orgánulos citoplasmáticos y la membrana celular; existe una continuidad funcional entre ellos sin que haya una continuidad estructural.

Para finalizar, relacionaremos algunos ejemplos de sustancias que son secretadas y que han sido procesadas por el aparato de Golgi:

- Sulfato de condroitina (células cartilaginosas).
- Mucina células caliciformes).
- Tiroglobulina (células tiroideas).
- Enzimas (células acinares del páncreas).

## LISOSOMAS Y DIGESTION CELULAR.

Las células incorporan al citoplasma (en vacuolas de distintos tamaños) diversas sustancias, utilizables como nutrientes. Como parte de los mecanismos de defensa celular, las células fagocitan microorganismos o partículas extrañas que se encuentran en el medio extracelular. El material que hay en estas vacuolas, es degradado a moléculas pequeñas por la acción de enzimas hidrolíticas (representadas más adelante) que se encuentran dentro de un organito membranoso, el cual recibe el nombre de **lisosoma**.

### Enzimas

### Sustratos

Hidrolizan

Proteasas	----->	Proteínas
Nucleasas	----->	Ácidos nucleicos
Glucosidasas	----->	Polisacáridos
Sulfatos de arilo	----->	Sulfatos de moléculas orgánicas
Lipasas y fosfolipasas	----->	Lípidos
Fosfatasa	----->	Fosfatos de moléculas orgánicas

El proceso mediante el cual la célula incorpora sustancias, partículas u otros elementos más complejos, tales como bacterias, restos celulares o células, se denomina *endocitosis* e incluye la **fagocitosis** y la **pinocitosis**.

La degradación a moléculas más pequeñas, de las sustancias incorporadas a las vacuolas, y que está a cargo de los lisosomas, se denomina **digestión celular**.

Los lisosomas se descubrieron en 1966, cuando Christian de Duve y sus colaboradores describieron la presencia de fosfatasa ácida en una de las fracciones de hígado de rata que estaban estudiando. La descripción de estas partículas se realizó primeramente a partir de los datos obtenidos mediante la ultracentrifugación y, posteriormente, el desarrollo de la técnica citoquímica, de demostración de las fosfatasas ácidas en microscopía de luz y electrónica, permitió, completar el conocimiento en cuanto a forma, tamaño y localización de estos organitos.

Los lisosomas tienen un tamaño aproximado de 0.1-3  $\mu\text{m}$ , son pleomorfos, observándose al M/E rodeados por una membrana trilaminar y en dependencia del tipo de lisosoma, pueden presentar en el interior de estas membranas materiales de densidad electrónica variable.

Dentro de los lisosomas se encuentran, en estado de "latencia", las enzimas hidrolíticas, de las cuales se conocen cerca de 50, aunque debemos aclarar, que no todas están presentes en un lisosoma, sino que dependiendo del tipo celular y, sobre todo, de la función que las células realizan, existirán lisosomas con determinados grupos de enzimas.

Una característica de los lisosomas es su contenido ácido, debido a una bomba de protones ATP-dependiente que se encuentra en la membrana celular y que mantiene un pH de 5 internamente mediante la acumulación de  $\text{H}^+$ .

En determinadas condiciones del medio extracelular se puede inducir la síntesis de enzimas específicas que respondan a determinados requerimientos, determinándose así, la formación de nuevos lisosomas con un contenido enzimático diferente a los ya existentes.

Los estudios citoquímicos de estos organitos, han permitido conocer la diversidad de forma que presentan y también se ha podido determinar el origen de cada una de dichas formas. Los marcadores citoquímicos principales son la fosfatasa ácida, la aryl sulfatasa,  $\beta$ -glucuronidasa, N-actil- $\beta$ -glucosaminidasa y 5-bromo-4-cloroindolacetato-esterasa.

## CLASIFICACIÓN.

Para una mejor comprensión de los diferentes lisosomas y de su función, los clasificaremos en: primarios y secundarios.

Los **lisosomas primarios** son aquellos que una vez originados se mantienen en el citoplasma, sin reunirse a ningún otro elemento celular y manteniendo a sus enzimas en estado latente (lisosoma virgen). Se originan a partir del retículo endoplásmico (RE) y el aparato de Golgi (GERL).

Los **lisosomas secundarios** son los que se forman a la unión de un elemento celular con un lisosoma primario, aportando este último las enzimas que de esta forma son "activadas".

Existen varios tipos de lisosomas secundarios los cuales se enumeran y describen a continuación:

Los lisosomas secundarios son:

1. Vacuola digestiva.
2. Citolisosomas o vacuola autofágica.
3. Cuerpos residuales.

La descripción de los lisosomas secundarios, la haremos explicando el mecanismo de la digestión celular.

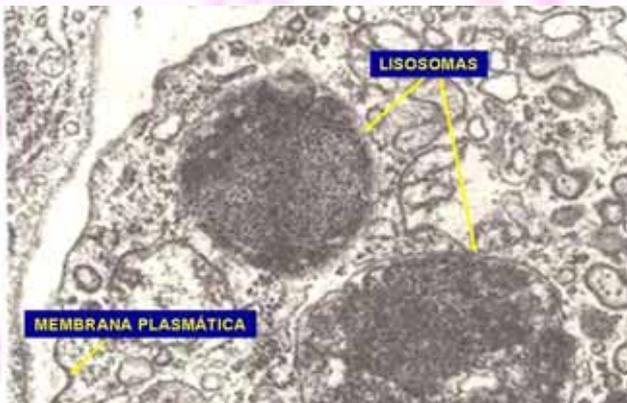


Fig. 3.16. Lisosomas al Microscopio electrónico de transmisión.

## DIGESTIÓN CELULAR.

Mediante el mecanismo de endocitosis se incorporan al citoplasma, incluidas en vacuolas, determinadas sustancias de diversos tamaños. Las vacuolas mayores, con partículas grandes (cuerpos extraños, bacterias, elementos celulares o células), reciben el nombre de vacuolas fagocíticas o fagosomas (fagos, comer). En cambio, la formación de vacuolas con sustancias disueltas reciben el nombre de vacuolas pinocíticas (pinos, beber). La vacuola pinocítica, da lugar a la formación de una estructura, delimitada por una membrana que

contiene en su interior pequeñas vesículas membranosas. Esta estructura es el llamado **cuerpo multivesicular**, el cual se unirá a lisosomas primarios para la hidrólisis del contenido en su interior convirtiéndose de esta forma en un lisosoma secundario que dará lugar finalmente a un cuerpo residual. El cuerpo multivesicular se observa también en los procesos de autofagia como más adelante veremos.

**Vacuola digestiva.** La unión de las vacuolas fagocíticas y las pinocíticas con lisosomas primarios, da lugar a la llamada **vacuola digestiva**, donde comienza la hidrólisis de las sustancias. Los elementos que componen el material hidrolizado, carbohidratos, aminoácidos, etc., pasan a través de la membrana de la vacuola digestiva por diferentes mecanismos de transporte, hacia la matriz citoplasmática, donde serán utilizadas en los procesos metabólicos celulares.

**Cuerpo residual.** El resto del material que se encuentra dentro de la vacuola digestiva y que no pudo ser hidrolizado por las enzimas hidrolíticas, queda formando otro tipo de lisosoma secundario, el llamado **cuerpo residual**.

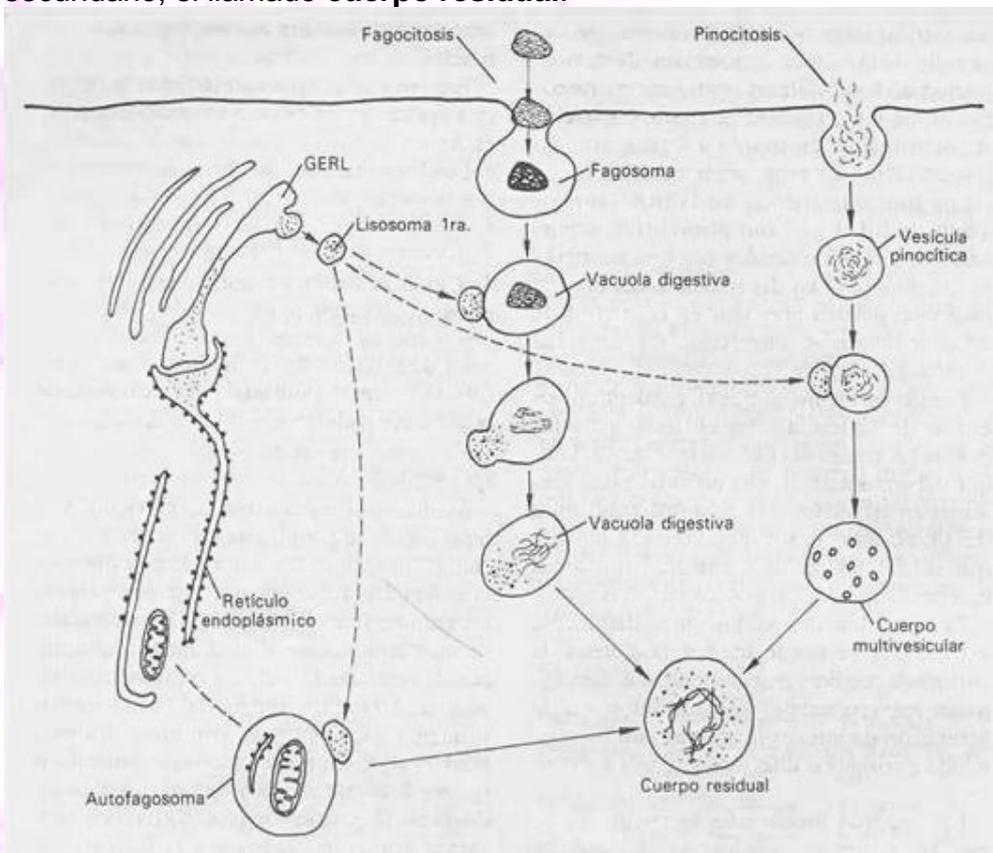


Fig. 3. 17. Lisosomas y digestión celular.

Una vez formada la vacuola digestiva, es capaz de incorporar nuevas sustancias para que sean hidrolizadas.

Mediante el proceso de hidrólisis intracelular se obtienen elementos para el metabolismo celular. Además, los lisosomas intervienen en otros procesos, tales como los de defensa contra microorganismos que penetran en los tejidos.

Existen unas células fagocíticas, los macrófagos, que contienen gran cantidad de lisosomas. Estas células tienen la capacidad de desplazarse, e incorporar al citoplasma, bacterias y

virus mediante la fagocitosis, los cuales son atacados dentro de la vacuola digestiva por las enzimas lisosomales, que los destruyen.

De esta forma el organismo combate los procesos infecciosos, aunque en ocasiones existen algunos microorganismos que elaboran sustancias protectoras respecto a las enzimas lisosomales. Esto determina que los agentes infecciosos se desarrollen dentro de las células fagocíticas y produzcan la enfermedad. Ejemplo de esto son la lepra y la tuberculosis, en las que los mecanismos defensivos del organismo están disminuidos, como consecuencia de la reproducción intracelular de las bacterias causantes de estas enfermedades, pues dichas bacterias no son destruidas por las enzimas lisosomales.

Las células secretoras de la glándula tiroideas producen unas hormonas llamadas tiroglobulinas, las cuales son secretadas y almacenadas fuera de las células (en el interior del folículo), de forma que quedan aisladas del torrente sanguíneo, vía que es utilizada para la distribución de estas sustancias hormonales por todo el organismo. Cuando por requerimientos del metabolismo, estas hormonas se hacen necesarias en la circulación, las células tiroideas fagocitan el coloide donde se encuentra la tiroglobulina almacenada formando vacuolas citoplasmáticas (fagosomas) a las que se le unen los lisosomas primarios dando lugar a vacuolas digestivas y, a través de un proceso degradativo, las tiroglobulinas se convierten en hormonas tiroideas activas, las cuales son liberadas posteriormente hacia el torrente sanguíneo, mediante un proceso de secreción (exocitosis) para ser distribuidas por el organismo.

Otro proceso en que intervienen los lisosomas es en la eliminación de células viejas y en la recuperación de elementos que sirven para la síntesis de compuestos en nuevas células; por ejemplo, los glóbulos rojos de la sangre tienen un promedio de vida de 120 días aproximadamente, al cabo de los cuales ya dejan de circular por el torrente sanguíneo. La eliminación de los hematíes (glóbulos rojos), tiene lugar en las células fagocíticas del sistema fagocítico-mononuclear, que se encuentran en el bazo y el hígado. Las células fagocíticas, que son ricas en lisosomas, "detectan", por diversos medios a los hematíes viejos y los fagocitan.

Posteriormente las enzimas lisosomales degradan los elementos constituyentes de las células viejas y liberan la hemoglobina o sus componentes hacia la sangre, de donde serán tomados para la nueva síntesis de hemoglobina, por parte de las células sanguíneas que se van diferenciando.

## **CITOLISOSOMAS.**

Las células pueden segregar y digerir parte de su propio citoplasma bajo determinadas condiciones, tales como la irradiación y el ayuno; también se ha reportado en células en condiciones normales. Este proceso se denomina **autofagia** y es realizado por lisosomas y vacuolas que contienen en su interior organitos, o partes de los mismos tales como retículo endoplásmico, mitocondrias, etc., así como restos de la membrana celular que han sido incorporados en los cuerpos multivesiculares mediante el proceso de pinocitosis.

La autofagia se realiza, en ocasiones, de forma selectiva, como se ha comprobado en células secretoras del hipotálamo de la madre de animales recién nacidos, los cuales son destetados. Al no tener cría que alimentar, la hormona que estimula la secreción láctea se acumula en numerosos gránulos de secreción intracitoplasmáticos, los que son degradados por las enzimas hidrolíticas lisosomales. De esta forma se elimina el exceso de hormona

existente. Este proceso se ha observado también en diversos tipos de células secretoras endocrinas del páncreas y de la suprarrenal. En estos procesos de autofagia de gránulos de secreción (crinofagia), se observa la formación de numerosos **cuerpos multivesiculares**, dentro de los cuales están contenidos los gránulos.

**Vesículas cubiertas.** Estas vesículas son vesículas citoplasmáticas redondeadas con un tamaño aproximado de 50-250 nm y que presentan una cubierta vellosa en la cara citoplasmática de la vesícula formada por la proteína **clatrina**.

El origen de estas vesículas es muy diverso. Se han observado originándose a partir de la membrana plasmática, el aparato de Golgi, el retículo endoplásmico rugoso y las vesículas secretoras. En la membrana plasmática, al parecer, se relacionan con la absorción de proteínas.

La vesícula cubierta con la proteína clatrina, se desprende del sistema de membranas que le dio origen y pasa al citoplasma, de la misma manera que se produce un fagosoma o una vesícula pinocítica al desprenderse de la membrana celular.

Las vesículas cubiertas representan, hipotéticamente, una forma de reciclar el sistema de membranas de la célula y además están relacionadas con un transporte intracelular selectivo mediante la acción de receptores específicos en la membrana de las vesículas cubiertas. El movimiento de las vesículas cubiertas se lleva a cabo desde la membrana celular, internamente entre los orgánulos y hacia la membrana celular y en este movimiento interno tiene una gran importancia el citoesqueleto celular a través del sistema de filamentos y túbulos.

**Endosoma.** Relacionado con las vesículas cubiertas se ha descrito un nuevo orgánulo citoplasmático que forma un compartimento celular denominado **endosoma** el cual se forma a partir de estas vesículas cubiertas al perder la cubierta de proteína clatrina. Los endosomas intervienen en el transporte mediado por receptores en un proceso ATP-dependiente. Se ha comprobado experimentalmente que una vez que la sustancia unida al receptor penetra en la célula dentro de una vesícula cubierta, esta se dirige hacia el Golgi hacia la cara formadora o transreticular, pierde la cubierta de clatrina y a través de una bomba de protones comienza a acidificar su interior separándose el receptor de la sustancia endocitada. El pH es similar al observado en los lisosomas pero a diferencia de estos en los endosomas no hay enzimas hidrolíticas. Posteriormente las sustancias son incorporadas a los lisosomas para su hidrólisis y la región donde se halla el receptor es incorporada a la membrana celular reciclándose de esta forma.

La acción de las enzimas lisosomales se lleva a efecto también fuera de la célula, como sucede con el osteoclasto, que es una célula "remodeladora" del hueso. Esta célula libera las hidrolasas ácidas que actúan a un pH bajo, mantenido por la liberación de ácido láctico por la propia célula. A medida que las hidrolasas actúan sobre la matriz ósea, el osteoclasto incorpora, mediante endocitosis, los elementos que van siendo liberados de la matriz ósea, y mediante la digestión celular este material es degradado por los lisosomas intracelularmente.

## **PEROXISOMAS.**

Estos organitos citoplasmáticos, llamados también **microcuerpos** o **glioxisomas**, fueron inicialmente observados en la década de 1950 en células hepáticas y renales de roedores. Los peroxisomas miden de 0,5-1  $\mu\text{m}$  de diámetro; se describen delimitados por una membrana y, en su interior, con un contenido más denso, a veces con una estructura cristalina. En el período de su descubrimiento se les denominó microcuerpos; posteriormente, fueron descritos en diversos tipos celulares, lo que hizo difícil interpretar sus funciones. Años más tarde, mediante técnicas de fraccionamiento se encontró que la enzima uratoxidasas toma una distribución, en estos organitos, similar a la fosfatasa ácida en los lisosomas.

El desarrollo de las técnicas citoquímicas para la catalasa y su empleo en la microscopía óptica y en la electrónica, demostró la gran variedad de células que contienen en su citoplasma a estos organitos. También fue posible determinar que la morfología variaba de un tipo celular a otro.

La estructura central, más densa y cristalina, descrita al inicio, hoy se sabe que constituye un cristaloides, formado por la enzima uratoxidasas. Este cristaloides falta en muchos peroxisomas, por lo cual la identificación de este organito requiere de la técnica cito química de la catalasa.

Las enzimas aisladas de los peroxisomas de hígado de rata son: uratoxidasas, D-aminoácido oxidasa e hidroxíácido-oxidasa. Además de la catalasa, que se encuentra en cantidades significativas.

Las funciones de los peroxisomas aún se encuentran en estudio. Algunos autores plantean que ellos pudieran estar relacionados con la protección de las células contra el  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que se produce en algunas reacciones celulares. Otros suponen que pudieran estar relacionados con el metabolismo de los lípidos y con el metabolismo de las purinas. Su origen, al parecer es a partir del retículo endoplásmico rugoso, aunque esto no es concluyente. Los peroxisomas a pesar de que no tienen ni ribosomas, ni ADN se dividen por bipartición y las enzimas que tienen en su interior se incorporan a partir del citoplasma.

## **INCLUSIONES CITOPLASMÁTICAS.**

Se utiliza el término genérico de **inclusión** para designar a los alimentos almacenados y a los pigmentos que se encuentran en el citoplasma.

## **SUSTANCIAS ALMACENADAS.**

Las sustancias almacenados incluyen dos tipos fundamentales, los lípidos y los carbohidratos. La forma de almacenaje de los carbohidratos es el glucógeno, muy abundante en la célula hepática y menos en la célula muscular, aunque puede almacenarse en otros tipos celulares en menor cuantía. En un corte histológico los depósitos de glucógeno se visualizan en la célula hepática teñida con H y E, en forma de espacios claros y de bordes irregulares, pues por causas de la técnica es removido el glucógeno.

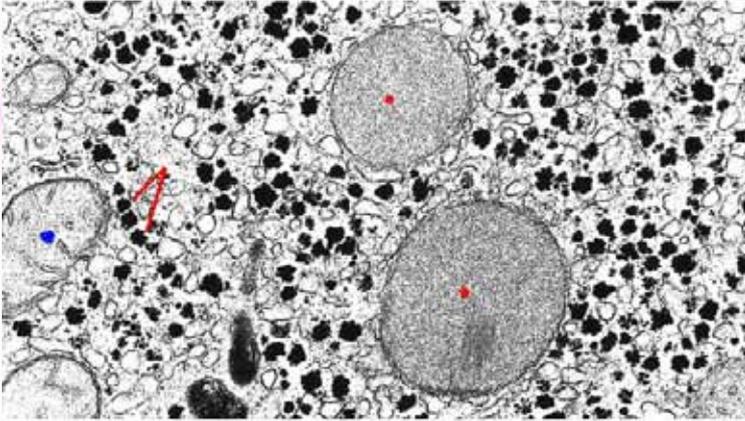


Fig. 3.18. Microfotografía electrónica. Señaladas con flecha se ven partículas de glucógeno. Con los puntos rojos se ven dos lisosomas; con punto azul, una mitocondria. Las vesículas pequeñas claras que se ven cercanas al glucógeno, se corresponden con el retículo endoplasmático liso.

Para visualizar el glucógeno es necesario emplear la técnica del ácido peryódico de Schiff, que tiñe de un color púrpura a magenta los sitios donde hay glucógeno, pudiendo entonces observarlo. Al M/E con técnicas citoquímicas, el glucógeno se visualiza en forma de pequeñas rosetas electrondensas.

Las grasas forman pequeñas cavidades de bordes bien delimitados. Utilizando la fijación con tetróxido de osmio, o usando coloraciones con Sudan, es posible visualizar los sitios ocupados por las grasas. Las grasas se acumulan normalmente en las células adiposas y en algunas patologías pueden acumularse en las células hepáticas.

## **PIGMENTOS.**

Los pigmentos se clasifican en dos grupos; exógenos y endógenos.

### **PIGMENTOS EXÓGENOS.**

Son aquellos que formados fuera del organismo son incorporados a las células por una u otra vía. Entre ellos encontramos: carotenos, polvos, minerales y marcas de tatuaje.

Los carotenos son un tipo de pigmento formado en varios tipos de vegetales. Son sustancias solubles en grasas, por lo que también se les denomina lipocromos. Algunas formas de caroteno son provitaminas que se convierten en vitamina A. Un consumo excesivo de alimentos ricos en caroteno (zanahoria, tomates, etc.) pudiera proporcionar un color amarillento a la piel, aunque esto es algo poco frecuente.

Los polvos se inhalan por vía respiratoria y pueden producir una pigmentación característica en el tejido respiratorio.

La ingestión o absorción de minerales (plata o plomo) por la superficie corporal, puede producir en determinados sitios la acumulación de estas sustancias, dando una coloración a la piel y/o mucosas.

## PIGMENTOS ENDÓGENOS.

Entre los pigmentos endógenos el más importante es la hemoglobina, la cual proviene de los eritrocitos "viejos", los cuales son eliminados en el hígado, el bazo y la médula ósea. La hemoglobina es desintegrada en dos compuestos pigmentados, la hemosiderina que contiene hierro, y otro que no contiene hierro bilirrubina o hematoidina. La hemosiderina se encuentra en los fagocitos de los órganos mencionados y la bilirrubina forma parte de la bilis, sustancia segregada por el hígado y que también se almacena en la vesícula biliar.

Otro de los pigmentos endógenos es la melanina, compuesto químico que le da color a la piel, a sus anexos y a los ojos. La melanina es de color pardo a negro y es producida por unas células denominadas melanocitos.

La lipofucsina es otro pigmento que tiene lípidos en su constitución y presenta en estado natural un color parduzco. Se ha observado en los cuerpos residuales de células nerviosas; es más abundante en las personas de edad, por lo que se considera a la lipofucsina como un material de "desgaste" que no ha podido ser eliminado de las células.

## CICLO CELULAR

Una de las propiedades fisiológicas de la célula y que define a los seres vivos, es la capacidad que estos tienen de reproducirse. La formación de nuevas células es el resultado final de una serie de procesos que comienzan a partir de una célula recién formada y termina en la reproducción de esta célula, es decir, se encadenan estos procesos en un **ciclo celular**.

El ciclo celular comprende dos fases principales y varias etapas en cada una de estas. La primera fase se denomina **interfase** y en ella la célula realiza toda una actividad de síntesis, en la cual también se duplica el ADN y se sintetizan las proteínas de los cromosomas, y se corresponde con el núcleo que explicamos anteriormente. Se elaboran además otros materiales, los cuales se utilizarán en la otra fase, **división**; por ejemplo, los precursores del huso y probablemente se almacene energía en forma de ATP.

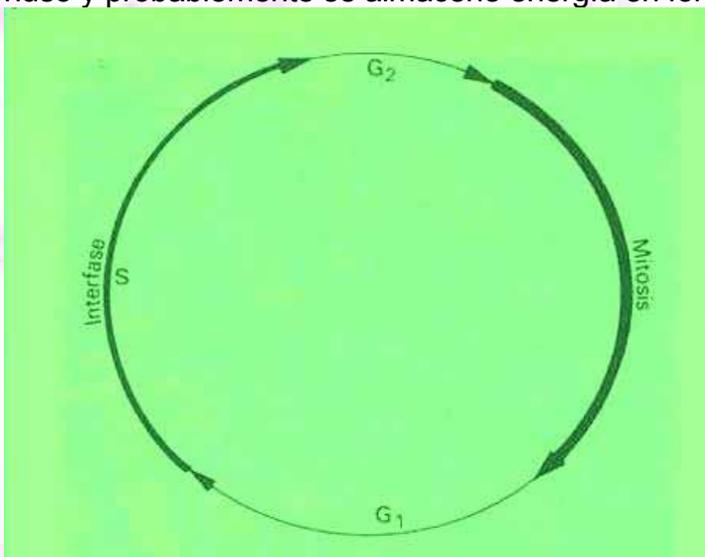


Fig.3.19. En la imagen se observan todas las etapas del ciclo celular.

Mediante el empleo de técnicas autorradiográficas y citoquímicas, se determinó que en la interfase existen tres etapas, G<sub>1</sub>, S y G<sub>2</sub>. En la etapa G<sub>1</sub> (G-gap, espacio), la célula desarrolla